

УДК 615.277.3.015:546-022.53

*П.М. Бычковский, А.А. Кладиев, С.О. Соломевич, С.Ю. Щеголев***ЗОЛОТЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ:
СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, БИМЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ***Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск**ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва**Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов***Контактная информация***Бычковский Павел Михайлович, канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственных средств на основе модифицированных полисахаридов***Адрес:** 220030, Минск, ул. Ленинградская, 14; **тел.:** +375(17)209-55-86**e-mail:** bychkovsky@tut.by

Статья поступила 19.04.2011., подписана в печать 05.05.2011.

Резюме

В работе дан краткий обзор получения и стабилизации биомолекулами золотых наночастиц различной формы и размеров, сделан обзор биомедицинского применения препаратов на основе КЗ.

Ключевые слова: коллоидное золото, проспидин, сурфактанты, наносферы, наностержни.*P.M. Bychkovskiy, A.A. Kladiev, S.O. Solomevich, S.Yu. Schegolev***GOLD NANOPARTICLES:
SYNTHESIS, PROPERTIES, BIOMEDICAL APPLICATIONS***The establishment of the Belarusian State University, "Research Institute of Physical and Chemical Problems", Minsk**LLC "TNK Biotechnology Company", Moscow**Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov***Summary**

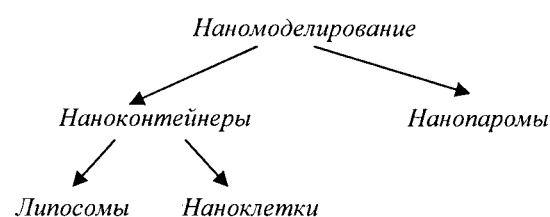
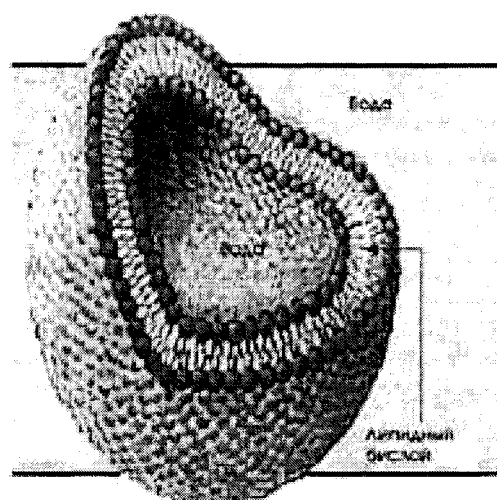
The paper presents an overview of obtaining and stabilizing biomolecules gold nanoparticles of different form or size, an overview of the biomedical applications of drugs based on fault.

Key words: colloidal gold, prospidin, surfactants, nanospheres, drift-terzhni.**Введение**

Многочисленные опухоли остаются одними из самых коварных и непредсказуемых заболеваний. Для большинства из них до сих пор не предложено эффективных схем терапевтического воздействия. Типичные недостатки существующих методов лекарственной терапии опухолей – высокая стоимость препаратов, ограниченная эффективность, выраженные побочные эффекты. Положение усугубляется все более широким распространением мутантных штаммов опухолевых клеток, устойчивых к традиционным химиотерапевтическим средствам. Вместе с тем, колоссальные усилия ученых и врачей во всем мире привели к существенному прогрессу в выяснении механизмов развития опухолей, а также к выработке новых эффективных методов противодействия этим процессам.

Для того, чтобы увеличить терапевтический эффект препарата, необходимо разработать методы его целенаправленной доставки в пораженный орган. Перспективной представляется доставка лекарственного вещества с помощью биологически совместимых наночастиц (рис. 1). Так, инкапсулирование в «наноконтейнер» позволяет создавать инъекционные препараты пролонгированного действия, характерная особенность которых – накопление на накопсул в зоне опухоли.

В качестве корпускулярных носителей для биологически активных веществ используются следующие структуры: фуллерены, липосомы (рис. 2), полиакрилатные частицы, мицеллы, КЗ и др.

**Рис. 1.** Наномоделирование.**Рис. 2.** Строение фосфолипидной липосомы.

Лекарственные препараты могут быть как инкапсулированы в наночастицы, так и сами приготовлены в виде наночастиц. Существует множество предложений, которые могут быть реализованы либо на основе неких свойств, присущих наночастицам изначально, либо посредством их соответствующей функционализации.

Поверхность наночастиц может быть модифицирована покрытиями, слоями или связками для обеспечения/улучшения их характеристик (таких как, например, биосовместимость, направляемость, способность распознавания формы и участие в биологическом взаимодействии).

Использование наночастиц в качестве своеобразных «нанопаромов» обещает многочисленные преимущества:

- «нерастворимые» препараты могут стать «растворимыми», если они доставляются «нанопаромами»;
- лекарства могут быть защищены от деградации во время переноса к месту назначения;
- наночастицы могут активно или пассивно накапливаться в органе-мишени и контролируемо высвобождать переносимые лекарства – как по дозе, так и по времени.

Увеличение отношения площади поверхности препаратов к объему при уменьшении их размеров может привести к увеличению их терапевтической активности, а поведение определенных типов наночастиц в магнитном поле и/или при повышении температуры среды вкупе с другими их специфическими свойствами открывает более широкий спектр терапевтических методик.

Нанотехнологии рассматриваются как общая платформа возможностей для направленной доставки препаратов, которая дает много преимуществ:

- создает новые способы доставки лекарств;
- служит основой индивидуальных методов лечения, делая их более эффективными;
- уменьшает эффективную дозу препарата и его токсичность.

Из всего многообразия наночастиц, используемых в медицине, отдельного внимания заслуживают золотые наночастицы как одни из наиболее перспективных носителей лекарственных веществ. Например, прикрепленную антителами к раковой клетке наночастицу можно нагреть до температуры выше 100 °С, уничтожив саму клетку. Также нагрев может заставить открыться капсулу с противораковым препаратом, который будет доставлен точно к месту назначения. Технология производства лекарственных препаратов с использованием КЗ недостаточно изучена, но, очевидно, не требует сверхзатрат или недоступного, «заоблачного» оборудования. Также следует отметить, что все зарегистрированные препараты КЗ производятся зарубежными фармацевтическими компаниями. В свете вышеизложенных фактов абсолютно целесообразным является изыскание возможностей разработки и внедрения в производство противоопухолевых препаратов на основе КЗ.

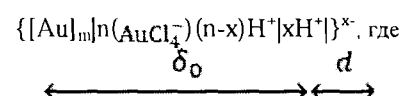
Состав золотых наночастиц

Научное исследование проблем получения и использования КЗ началось в середине XIX в. К этому моменту Томас Грэм и Энрико Сельми ввели в научную литературу термин «коллоидный раствор», описали свойства подобных растворов и их

отличия от истинных растворов. В 1857 г. вышла статья Майкла Фарадея [33], которая стала основополагающей научной работой, посвященной изучению способов синтеза и свойствам КЗ. В ней описана агрегация КЗ в присутствии электролитов, защитный эффект желатины и других высокомолекулярных соединений, свойства тонких пленок КЗ.

В конце XIX – начале XX веков результаты работ, посвященных изучению свойств КЗ, опубликовал Рихард Жигмонди [5]. Он впервые описал способы синтеза КЗ с различными размерами частиц при использовании в качестве восстановителей перекиси водорода, формалина, белого фосфора, а также при НЛ важнейшие физико-химические свойства золотых золь. Зная, что частицы золота в коллоидном растворе заряжены отрицательно, он предположил: возникающее в результате взаимное отталкивание между этими одинаково заряженными частицами служит причиной устойчивости золя. При добавлении в коллоидный раствор соли, образующиеся катионы отчасти нейтрализуют суммарный заряд поверхности частиц, что способствует их агрегации и, в конечном итоге, осаждению коллоидной суспензии. В сотрудничестве с физиком-теоретиком Марианом Смолуховским Жигмонди рассчитал, на каком расстоянии должны находиться в коллоидном растворе частицы золота, чтобы происходила их агрегация.

Коллоидная частица золота состоит из кристаллического ядра $[Au]_m$, на поверхности которого адсорбированы ионы $AuCl_4^-$, определяющие отрицательный заряд коллоидной частицы золота. Ионы $AuCl_4^-$ составляют внутренний слой двойного ионного (электрического) слоя и определяют величину потенциала адсорбции. Ионы H^+ находятся в интермицеллярном растворе (одна часть располагается в адсорбционной области, а другая – в диффузной области двойного электрического слоя). Условно мицеллу КЗ можно представить следующим образом (рис. 3):



$[Au]_m$ – ядро мицеллы (m – число атомов золота, которое может меняться от нескольких сотен до миллионов);
 n – количество адсорбированных ионов $AuCl_4^-$ ($n \ll m$);
 δ_0 – толщина адсорбционного слоя;
 d – толщина диффузной части двойного электрического слоя [88].

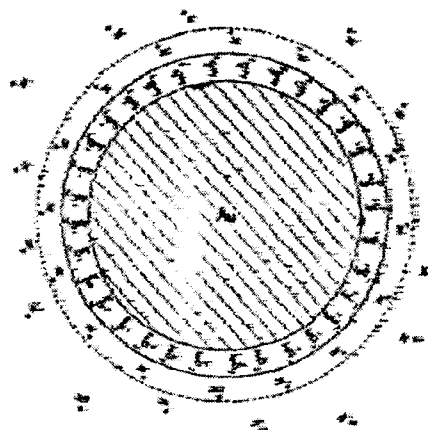


Рис. 3. Схематическое представление золотой коллоидной частицы.

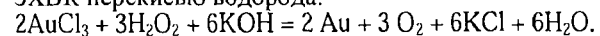
Высокая электронная плотность, способность рассеивать и излучать вторичные электроны, характерное поглощение и рассеяние в видимой области спектра электромагнитных излучений, интенсивная красная окраска золотосодержащего маркера позволяют легко обнаруживать частицы золота с помощью различных физико-химических методов (микроскопия, фотометрия, проточная цитометрия и др.). Возможность [49] получения золей золота с различными размерами частиц и их узким распределением обеспечивает высокое разрешение этих методов, а кроме того, позволяет вводить метку одновременно по двум и более антигенам (или иным лигандам). Размеры частиц КЗ после проведения соответствующей иммунохимической реакции можно увеличить с помощью реакции усиления солями серебра или золота (автометаллография), что существенно раздвигает границы применимости описанных методов [54].

Методы получения золотых наночастиц Обзор методик синтеза

Методы синтеза металлических коллоидов можно условно разделить на две большие группы в зависимости от способа получения. Это группа дисперсионных методов, основанных на диспергировании металлов, и конденсационных, где наночастицы восстановленного металла образуются из ионов соответствующих солей [61]. Первый способ приготовления КЗ основан на разрушении металлического золота под действием электрического тока высокого напряжения. Но применение постоянного тока приводит к получению золей, неоднородных по величине частиц золота, поэтому более распространён второй способ – синтез коллоидных частиц из галогенидов золота (например, золотохлористоводородной кислоты (ЗХВК)) с использованием химических восстановителей и/или облучения (ультразвук, ультрафиолет или лазерный радиолиз) [24].

В качестве восстановителей, применимых для синтеза золотых золей, известны около ста различных органических и неорганических соединений [2]. В 1951 г. для синтеза золей в качестве восстановителя был предложен цитрат натрия [86] (для получения КЗ со средним диаметром частиц 20 нм), в 1958 г. – аскорбиновая кислота [79] (12 нм), в 1963 – ЭДТА [32] (20 нм). С 1982 г. для получения частиц диаметром около 5 нм активно используют борогидрид натрия [21], цианоборогидрид [26].

Все перечисленные выше методы получения КЗ химическим восстановлением основаны на реакции конденсации из перенасыщенного раствора ЗХВК. Р. Жигмонди и Т. Сведберг [5; 10] изучили кинетику процесса восстановления и сформулировали основные представления о механизме формирования частиц золота на примере восстановления ЗХВК перекисью водорода:



В результате реакции образуется только один электролит, следовательно, за её ходом можно наблюдать кондуктометрически.

В интерпретации Р. Жигмонди и Т. Сведберга, кинетика изменения электропроводности отражает следующие процессы (рис. 4):

1. Вначале происходит восстановление около 30 % ЗХВК. При этом образуется высокоперенасыщенный раствор золота, что соответствует отрезку АБ на кинетической кривой электропроводности.
2. Затем восстановление резко замедляется, и происходит конденсация золота с обра-

зованием очень мелких частиц (зародышей новой фазы размерами порядка 2 нм) – отрезок БВ, после чего первоначально сформированные частицы становятся ядрами конденсации для дальнейшего восстановления ионов золота.

3. На третьем этапе (отрезок ВГ) процесс восстановления ускоряется, и по его завершении суспензия приобретает ярко-красную окраску.

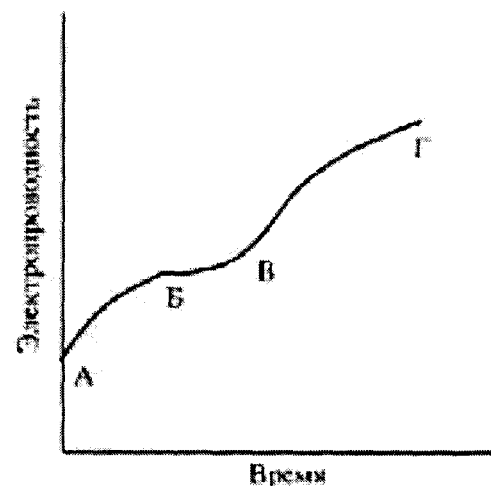


Рис. 4. Кинетическая кривая восстановления водорода в ЗХВК перекисью.

Исходя из конденсационного механизма формирования коллоидной фазы, можно выделить ряд управляющих параметров, определяющих степень дисперсности золотых суспензий закономерным и воспроизводимым образом. Очевидно, что скорость образования зародышей новой фазы зависит от степени пересыщенности раствора, т.е., главным образом, от концентрации реагирующих веществ и химической природы восстановителя.

При низкой скорости возникновения зародышей и достаточно высокой скорости конденсации частиц образуется относительно малое количество сравнительно крупных частиц. При более высокой скорости возникновения зародышей и сравнительно малой скорости конденсации частиц увеличивается вероятность образования большого количества частиц относительно малого размера. Однако увеличение концентрации восстановителя лимитируется агрегативной устойчивостью КЗ, достаточно высокие показатели которой достижимы лишь в средах с низкой ионной силой.

Наиболее широко распространенным методом получения золотых частиц с размерами 8–120 нм для медико-биологических приложений остается цитратное восстановление ЗХВК. Биологи при этом ссылаются на G. Frense [35], а материаловеды чаще упоминают работу J. Turkevich [86] по изучению процессов нуклеации и роста при синтезе КЗ.

Суть метода заключается в том, что к кипящему 0,01%-ному водному раствору ЗХВК добавляют 1%-ный водный раствор цитрата натрия в количестве, варьирующем в зависимости от требуемого размера частиц.

Методические подробности различных модификаций метода можно найти в статье [8]. В основном эти модификации заключаются в последовательности добавления реагентов, либо изменении их концентраций при сохранении соотношения.

Еще один вариант конденсационного метода предложен в работе D.V. Goia [39]. Суть его заключается в восстановлении концентрированного раствора ЗХВК изоаскорбиновой кислотой в присутствии защитного коллоида – гуммиарабика. В этих условиях кроме конденсационного реализуется агрегационный механизм восстановления, в результате чего образуется практически монодисперсная система сферических частиц \varnothing 80 нм – 5 мкм в зависимости от кислотности среды и концентрации восстановителя.

Кроме того, для получения золотых наночастиц используют двухфазный метод. На первой стадии металлосодержащие реагенты переводят из водной фазы в органическую, к которой затем добавляют растворы ПАВ и восстановителя. Было обнаружено, что при этом процессе образуются практически монодисперсные золи [46]. Позже был разработан однофазный метод, согласно которому в металлосодержащий органический раствор одновременно добавляли ПАВ и восстановитель [42].

Гораздо менее популярны физические методы восстановления, основанные на использовании ультразвука, ультрафиолетового, инфракрасного или ионизирующего излучений, лазерного фотолиза [36; 56; 63] и электрохимические методы [55]. К достоинствам этих методов следует отнести отсутствие в образующихся золях (собственно на поверхности металлических частиц) примесных остатков химических соединений [4].

Новым направлением в нанобиотехнологии может стать использование для синтеза КЗ клеток растений, микроорганизмов и даже человека [18; 37].

Определение среднего диаметра

Контроль качества золотых золь требует, прежде всего, оперативного определения среднего размера частиц. Традиционно для этого используют метод электронной микроскопии (ЭМ) [25]. Полученные микрофотографии обрабатываются по обычной процедуре, измеряя наибольший и наименьший размер частиц, определяя таким образом средний радиус сферы эквивалентного объема и среднее осевое соотношение. Для каждого образца КЗ обрабатывается не менее 300 изображений частиц.

Однако ЭМ-метод препаративно весьма сложен. Поэтому часто используется спектрофотометрический метод, основанный на известной зависимости максимума поглощения света металлическими золями от размера частиц [61; 87]. В работе [13] приведена калибровочная кривая, основанная на наилучшей сглаженности полиномиальной аппроксимации спектрофотометрических и ЭМ данных, для определения размера сферических золотых частиц диаметром 5–50 нм, полученных цитратным методом Френса. Надежность этой калибровки подтверждена другими авторами в независимых экспериментах [27; 64; 73]. Для некоторых размеров частиц данные о максимуме поглощения образующихся золь представлены в таблице.

Таблица
Максимумы поглощения для золь с различными размерами частиц

Средний \varnothing частиц	5	10	15	20	25	30	40
λ_{max} , нм	513	516	519	522	524	526	536

Для определения размеров частиц применяется также метод ДРС [7; 20]. Свет слабо воздействует на исследуемый образец, метод применим в широ-

ком диапазоне размеров частиц и позволяет восстанавливать распределение золотых частиц по размерам [71]. Для измерения размеров частиц методом ДРС возможно использование установки [14], работающей в режиме записи аналогового сигнала.

Реже для характеристики частиц и конъюгатов используют дифференциальное центрифугирование, сканирующую и атомно-силовую микроскопию, малоугловое рентгеновское рассеяние, масс-спектроскопию, рентгеновскую дифракцию и другие методы [24; 44; 62].

Синтез с участием

высокомолекулярных восстановителей

Традиционные методы получения КЗ-маркеров заключаются в синтезе (восстановлении восстановлением хлорауратов низкомолекулярными веществами) золотых наночастиц с последующей адсорбцией на них биополимеров.

Гораздо реже используют методы синтеза КЗ в присутствии синтетических или природных полимеров – ПЭГ, ПВП, поливинилацетата, полиамидоamina, политиафульвена, хитозана и других [31; 68; 72; 84; 91]. Частицы, сформированные таким образом, отличаются большей однородностью размеров и формы [52; 83]. При этом в качестве восстановителей используются борогидрид натрия [85], спирты и эфиры [45], гидразин [78], ультрафиолетовое излучение [30]. Восстановление борогидридом натрия авторы проводили в присутствии полимера, который ковалентно присоединялся к золотым частицам [65].

Siiman O. et al. [77] впервые предложили использовать высокомолекулярное вещество одновременно в качестве восстановителя и стабилизатора. При этом получаемые частицы золота оказывались покрытыми защитным слоем полимера – аминодекстрана, что способствовало более длительному хранению золотых золь. Затем биоспецифические макромолекулы «пришивали» к покрытым аминодекстраном частицам золота с помощью бифункциональных реагентов (в частности, глутарового альдегида). По наблюдению авторов, в ходе восстановления ЗХВК аминоксидедекстранами реакционная смесь сначала приобретала бледно-розовую окраску, которая затем становилась ярко-красной (т.е. не наблюдалось посинения раствора, соответствующего обратимой агрегации мелких частиц). Следовательно, механизм формирования золь золота отличался от предложенного Р. Жигмонди и Т. Сведбергом. Возможно, это связано с тем, что на начальных этапах происходит адсорбция ионов золота на полимерных цепях с их последующим восстановлением на функциональных группах полимера (например, альдегидных и гидроксильных). Агрегации частиц золота не происходит, очевидно, из-за стабилизирующего действия полимера.

Получение золотых наностержней

Все описанные выше способы получения золь коллоидных металлов предполагают получение коллоидных систем с частицами преимущественно сферической формы.

Образование сфероидальных и цилиндрических частиц в изотропной среде – редкое явление, которое может быть, например, связано со спонтанной агрегацией электростатически стабилизированных почти сферических частиц. Чтобы целенаправленно получить несферические коллоидные металлические наночастицы, необходимо создать искусственно анизотропные условия роста.

Для создания таких условий были предложены методы синтеза золей металлов в пористых материалах (жестких матрицах), таких как оксиды кремния или алюминия [22; 90]. Восстановление золота из хлораурата в этих методах осуществляется электрохимическим или сонохимическим способом в присутствии детергентов.

Другим вариантом получения НСт является восстановление на так называемых мягких матрицах, представляющих собой мицеллярный раствор ПАВ. Известно [9; 11], что в определенных условиях водные растворы ионных ПАВ способны образовывать мицеллы различного вида (сферические, цилиндрические и пластинчатые). Чаще всего в качестве ПАВ, применяемого в методах мягких матриц, используется широко распространенный в биохимии и микробиологии ионный детергент ЦТАБ [3].

Процедура получения золотых НСт по всей видимости не может быть одношаговой и протекает по механизму роста, опосредованного частицами золота. В качестве частиц используют ультрадисперсные золи золота (средний размер около 3 нм), полученные восстановлением ЗХВК борогидридом натрия в присутствии цитрата натрия либо ЦТАБ. Следующий этап заключается в объединении ростового раствора (ЗХВК, аскорбиновая кислота, ЦТАБ) и суспензии зародышей. При этом раствор сначала обесцвечивается, что, по мнению авторов [50], свидетельствует о восстановлении Au^{3+} или $AuCl_4^-$ до ионов Au^0 аскорбиновой кислотой. После внесения частиц раствор постепенно приобретает синюю, фиолетовую или красно-бурую окраску в зависимости от осевого отношения образующихся наночастиц.

Получение золотых наноболочек

Сферические золотые НО представляют собой тонкий (десятки нм) слой золота на диэлектрическом ядре диаметром 100 нм. По своим физико-химическим свойствам они занимают промежуточное положение между НСт и НСф. Оптические свойства таких частиц могут быть настроены путем варьирования диаметра ядер и толщины оболочки. Благодаря тому, что в технологии приготовления НО не применяются ПАВ, процедуры функционализации НО существенно проще чем для НСт.

Золотые НО обладают поглощением света типично в красной и ближней инфракрасной области спектра, а также очень высоким светорассеянием. Эти свойства делают их весьма перспективными в качестве диагностических и терапевтических инструментов в медико-биологических исследованиях [16].

Способ получения наноболочек, предложенный S.J. Oldenburg et al. [66], состоит из 4 основных этапов, схематически представленных на рис. 5.

- 1) сначала получают сферические силикатные ядра,
- 2) затем их поверхность функционализируют аминными группами,
- 3) на этих группах адсорбируются золотые частицы,
- 4) которые являются центрами конденсации, при дальнейшем восстановлении золота.

Детальное описание протоколов синтеза золотых НО и особенностей различных этапов можно в работах различных авторов [15; 69]. На первом этапе осуществляется синтез наночастиц SiO_2 путем гидролиза и последующей конденсации ТЭОС в среде этанола в присутствии аммиака (W. Stöber [82]). Оптический метод одновременного определения размера и концентрации силикатных наночастиц описан в работе B.N. Khlebtsov et al. [51].

Реакция восстановления двуокиси кремния в данном случае имеет вид:

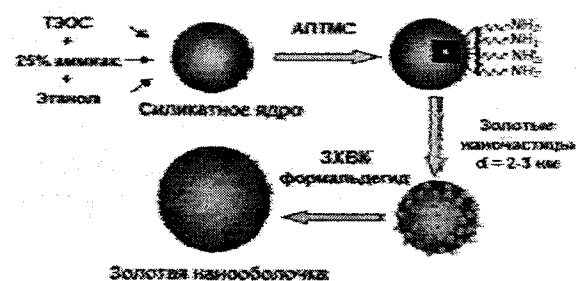
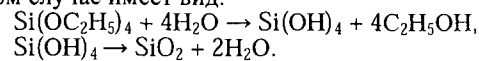


Рис. 5. Схематическое изображение протокола синтеза наноболочек.

При смешении реагентов происходит быстрый гидролиз ортосиликата, при котором этокси-группы ТЭОС замещаются на гидроксигруппы. Далее происходит разложение SiO_2 с образованием двуокиси кремния с конденсацией в коллоидную фазу. Из схемы реакции видна определяющая роль воды в процессе синтеза, поэтому, для получения воспроизводимых технологий получения наночастиц оксида кремния, необходимо использовать только абсолютный (99,99 %-ный) этанол и водный раствор аммиака с наибольшей концентрацией [41].

Стабилизация золотых наночастиц Электростатическая стабилизация золотых мицелл

Гидрозоли металлов – типичные гидрофобные коллоиды, существующие в агрегативно устойчивом состоянии лишь в условиях крайне низкой ионной силы дисперсионной среды. Такие золи называют электростатически стабилизированными, подчеркивая ведущую роль электростатической составляющей в обеспечении агрегативной устойчивости. Очевидно, что структура ДЭС металлической частицы зависит от способа получения коллоида (дисперсионный/конденсационный) и состава инкубационной среды. Очень часто КЗ, применяемое в биоаналитических целях, называют цитратстабилизированным. Это связано с тем, что метод, основанный на цитратном восстановлении хлораурата, остается наиболее удобным и широко используемым. Однако цитратная стабилизация является лишь частным случаем, и соответствующий термин следует употреблять с названными оговорками. В общем случае коионный слой металлической частицы представляет собой слой галогенидов (нитратов) металла или, в зависимости от pH среды, их гидроксидов. В случае восстановления солей металлов комплексообразующими соединениями (цитрат, аскорбат, ЭДТА) в состав ДЭС будут входить соответствующие комплексные ионы. Некоторые анионы из раствора могут замещать соответствующие компоненты коионного слоя.

Процесс образования золотых частиц схематично показан на рис. 3.

- 1) На первом этапе образуются комплексные соединения $[Au(III)-Cit]_x$, из которых в последующем формируются золотые мицеллы.
- 2) Поверхность золотых частиц легирована $Au(I)$ с цитрат-ионами в коионном слое [81].

- 3) Электрокинетический потенциал золотых НЧ сохраняется примерно одинаковым для частиц различных размеров и составляет ~ -50 мВ [76].

На рис. 6 и 7 показаны различные представления о строении золотой мицеллы [58].

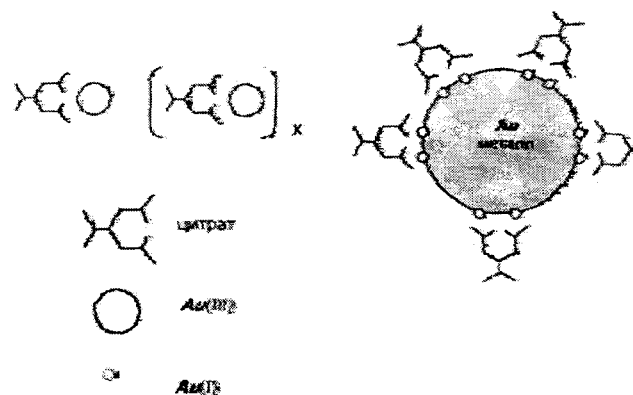


Рис. 6. Механизм формирования частиц КЗ.

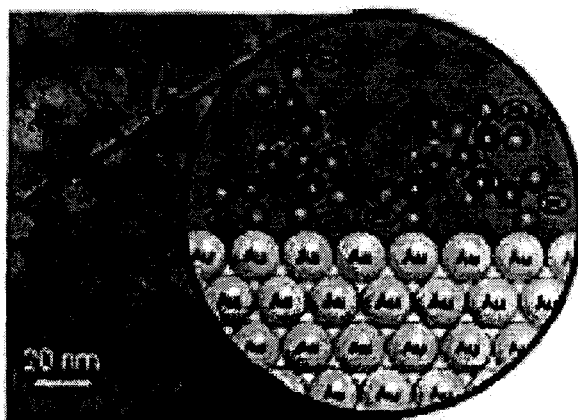


Рис. 7. Структура поверхности наночастицы КЗ.

Общие принципы конъюгации наночастиц с биомолекулами

Под устойчивостью дисперсных систем понимают постоянство их свойств во времени. В первую очередь, степени дисперсности, распределения частиц по объему системы и межчастичного взаимодействия. Наиболее характерный и общий для дисперсных систем тип изменения степени дисперсности связан с коагуляцией, заключающейся в слипании частиц [12]. Движущей силой коагуляции является избыточная поверхностная энергия. Поэтому основными факторами, обеспечивающими устойчивость дисперсных систем (при сохранении площади поверхности), будут те, которые снижают поверхностное натяжение. Их относят к термодинамическим факторам, уменьшающим вероятность результативных соударений между частицами, создающим потенциальные барьеры, замедляющим или практически исключаящим процесс коагуляции. Кинетические факторы, снижающие скорость коагуляции, связаны в основном с гидродинамическими свойствами среды: замедлением сближения частиц, вытеканием прослоек среды между ними.

Для лиофобных систем можно пренебречь адсорбционно-сольватным фактором устойчивости и учитывать только электростатическую составляющую

расклинивающего давления (отталкивание) и его молекулярную составляющую (притяжение). Для водных дисперсных систем расклинивающее давление представляет собой разность гидростатических давлений между двумя межфазными поверхностями (при перекрывании их поверхностных слоев) и окружающей их фазой. Теория Дерягина–Ландау–Фервея–Овербека (ДЛФО) при выводе молекулярной составляющей учитывает наиболее универсальные и существенные лондоновские силы дисперсионного взаимодействия, определяемые суммированием взаимодействий между всеми молекулами или атомами в обеих частицах. В соответствии с теорией ДЛФО, положительная энергия отталкивания с увеличением расстояния уменьшается по экспоненциальному закону, а отрицательная энергия притяжения обратно пропорциональна квадрату расстояния. Таким образом, на малых (непосредственное слипание частиц) и больших (через прослойку среды) расстояниях между частицами преобладают силы притяжения. На средних расстояниях преобладает электростатическое отталкивание (потенциальный барьер препятствует слипанию частиц).

Для золей золота, как однокомпонентных по дисперсной фазе систем, при малых концентрациях электролита электростатические силы отталкивания преобладают над молекулярными силами притяжения, кроме области малых расстояний. Скорость коагуляции в такой системе определяется вероятностью столкновения частиц, имеющих кинетическую энергию большую, чем энергия потенциального барьера. По теории ДЛФО добавка электролита в дисперсную систему вызывает сжатие двойного электрического слоя на поверхности частиц и снижение потенциального барьера между частицами, что делает возможным их сближение на расстояние, на котором начинают преобладать силы притяжения [23].

Наименьшая концентрация электролита, вызывающая начало медленной коагуляции, называется порогом коагуляции. Для быстрой коагуляции нужно добавить столько электролита к дисперсной системе, чтобы дальнейшее увеличение количества электролита не изменяло скорость коагуляции. Это условие отвечает критическому потенциалу двойного электрического слоя, а не его изоэлектрической точке.

Устойчивость золя можно повысить путем покрытия частиц полимерным слоем (конъюгации с полимером) [38]. Добавка очень малого количества полимера (особенно полиэлектролитов) к лиофобным коллоидам способна сильно повысить их агрегативную устойчивость, то есть стабилизировать лиофобные коллоиды.

Защитный полимер способствует увеличению межфазного взаимодействия, адсорбируясь на поверхности частиц, покрывая ее полностью с образованием адсорбционного слоя и уменьшая поверхностное натяжение, а также способствуя образованию сольватного слоя.

В итоге поверхность частиц приобретает свойства вещества-стабилизатора (лиофилизуется), и лиофобный золь становится гораздо менее чувствительным к коагуляции электролитами (благодаря электростатическим, гидрофобным взаимодействиям и структурно-механическому фактору устойчивости).

Эффективность стабилизации зависит от растворимости добавляемого защитного полимера в дисперсионной среде, способности лиофобных частиц его адсорбировать на своей поверхности и степени заполнения этой поверхности стабилизатором.

Наличие поверхностного адсорбированного полимерного слоя может свести к минимуму влияние межфазного натяжения благодаря обеспечению достаточного взаимодействия дисперсной фазы с дисперсионной средой. В результате значительно увеличивается энтропийная составляющая за счет участия молекул и ионов поверхностного слоя в тепловом движении вместе с частицами дисперсной фазы, обеспечивая тем самым агрегативную устойчивость систем. Избыток стабилизатора может привести к формированию второго слоя из его молекул, ориентированных противоположным образом, что снижает устойчивость системы. Недостаточное количество добавленного полимера также может снизить устойчивость системы, так как одна макромолекула может сорбироваться несколькими частицами, что инициирует их флокуляцию.

Для защитного действия важен, помимо молекулярной массы полимера, заряд его функциональных групп. Полимеры, содержащие как кислотные, так и основные группы, то есть полиамфолиты или слабоосновные поликатионные макромолекулы с рН-зависимым защитным действием, являются наиболее эффективным средством стабилизации гидрозолей золота [57].

Количественное определение защитного действия полимеров на лиофобные коллоиды (в частности, на гидрозоли золота) было впервые предложено Р. Жигмонди [5]. Данный метод и сейчас наиболее часто используется при проведении исследований в этой области. Жигмонди определял минимальное защитное количество гидрофильного полимера, достаточное для предотвращения коагуляции 10 мл золя золота при добавлении к нему 1 мл 10 %-ного раствора NaCl. Это количество лиофильного полимера, выраженное в миллиграммах, получило название «золотого числа». Золотое число является общей мерой защитного действия, поскольку эмпирически найдено, что сильное защитное действие, предотвращающее коагуляцию золя золота, обычно проявляется в такой же степени и в отношении других подобных ему золей.

Среди способов «посадки» биоспецифических зондов на КЗ метки выделяют два основных: адсорбционный и хемосорбционный. Каждый имеет свои особенности в плане приготовления и использования маркеров. Согласно общепринятому мнению, стабилизация золотых коллоидов узнающими биомолекулами (функционализация) происходит путем пассивной адсорбции полимера на поверхности частицы за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий [25]. Сообщается также [60] о кулоновском взаимодействии между H_2N -группами лизина с цитрат-ионами на поверхности золотых наночастиц, полученных методом Френса. В последнее время появились данные о важной роли в осуществлении процессов связывания белков с поверхностью золотых частиц SH-групп молекул цистеина [74].

К преимуществам простой (физической) адсорбции относят минимальное воздействие на структуру макромолекулы, и как следствие – сохранение ее функциональных свойств. Однако при использовании этого способа всегда следует учитывать возможную десорбцию и конкурирование с местами связывания на молекулах-мишенях. Основной особенностью адсорбции полимеров является то, что высокомолекулярные вещества обычно адсорбируются в количествах, много превосходящих необходимые для образования мономолекулярного слоя. При этом в случае разбавленных рас-

творов полимеров на изотермах адсорбции не наблюдается перегибов, которые свидетельствовали бы о формировании дискретного монослоя, как это наблюдается для низкомолекулярных ПАВ. Адсорбция индивидуальных молекул высокомолекулярных веществ в большинстве случаев носит необратимый характер. Это обусловлено относительно большим числом контактов макромолекул с поверхностью, когда одновременный разрыв всех связанных с ней звеньев является статистически маловероятным [1].

Известно, что между атомами серы и золота возникает семиполярная донорно-акцепторная связь [28]. Этот факт привлек исследователей к идее для более прочной посадки биомолекул на золотые частицы использовать алкантиольные линкеры (хемосорбционный способ).

Однако до сих пор самым популярным способом получения золотых маркеров для иммунохимических исследований следует признать нековалентную (адсорбционную) конъюгацию, сохраняющую в наибольшей степени нативную структуру биомacroмолекул и, как следствие, их функциональные качества.

Биомедицинское применение

Коллоидное золото

как носитель противоопухолевых препаратов

В последние годы наночастицы КЗ, серебра и их композиты широко используются для преобразования биоспецифических взаимодействий. В частности, резонансные оптические свойства нанометровых металлических частиц успешно применяются для разработки биочипов и биосенсоров, представляющих большой интерес для биологии, медицины и химии.

Частицы золота применяются для изучения транспорта веществ в клетку путем эндоцитоза [17], для доставки генетического материала в клеточное ядро методом баллистической трансфекции [6].

Новая эра в использовании КЗ в биологии и медицине открылась работой [34], в которой конъюгат КЗ с иммуноглобулинами впервые был применен в качестве иммунохимического маркера. В 1973 г. опубликована работа [35], посвященная методам синтеза КЗ с определенным заранее заданным размером частиц. С этого момента началось активнейшее использование биоспецифических маркеров – конъюгатов КЗ в различных областях биологии. С тех пор вышло огромное количество работ, посвященных применению КЗ и его конъюгатов в исследованиях биохимиков, физиологов растений, микробиологов, иммунологов, цитологов и др. специалистов. Кроме традиционной области применения – просвечивающей ТЭМ, КЗ стало широко применяться в методах сканирующей электронной микроскопии, световой микроскопии, твердофазном анализе, анализе на частицах золя, проточной цитометрии, количественном анализе белков и др.

Вместе с тем, давно известно влияние солей золота на иммунную систему [19]. На свойстве золота изменять неспецифические иммунные реакции организма основаны способы лечения ряда аутоиммунных заболеваний, в частности ревматоидного артрита. Наряду с этим в некоторых работах [80] сообщается об успешной терапии КЗ. Эффект [40] КЗ в этом случае заключается в ингибировании моноцит-индуцированной пролиферации лимфоцитов. В работе [59] обсуждается превращение золота (0) в золото(II) в клетках иммунной системы под воздействием некоторых аминокислот.

В конце 2005 г. вышла статья [75] по результатам изучения воздействия на клетки иммунной системы золотых наночастиц. При использовании атомно-адсорбционной и сканирующей микроскопии исследователи обнаруживали золотые наночастицы в лизосомах и перинуклеарном пространстве клеток. В результате проведенных исследований сделан вывод о том, что частицы КЗ являются нецитотоксичным, неиммуногенным и биосовместимым материалом для потенциального использования в различных областях наноиммунологии, наномедицины и нанобиотехнологии, что противоречит данным работы [29], посвященной токсикологии золота.

Кроме того, в последнее время появилось много работ [43; 48; 89], в которых рассматриваются вопросы использования золотых наночастиц для адресной доставки лекарств. В связи с этим необходимо подчеркнуть возможность выработки в организме животного и человека антител на вводимое лекарственное вещество, адсорбированное на частицах КЗ.

После открытия радиоактивных изотопов золота его роль в медицине заметно возросла. Коллоидные растворы изотопа золота ^{198}Au (период полураспада 65 ч) успешно использовались в терапевтических целях в онкологической практике [70]. Создан специальный «радиоактивный пистолет», в обойме которого 15 стерженьков из радиоактивного золота с периодом полураспада в 2,7 суток. Практика показала, что лечение «радиоактивными иглами» дает возможность ликвидировать поверхностно расположенную опухоль молочной железы уже на 25 день.

В самое последнее время нерадиоактивное КЗ широко используют для диагностики и лечения раковых заболеваний. В частности, в работе [67] описывается использование коллоидно-золотого вектора для доставки TNF к солидным опухолям у мышей. При внутривенной инъекции, конъюгат КЗ- TNF быстро накапливается в клетках опухолей и не обнаруживается в клетках печени, селезенки и других здоровых органах животных. Накопление КЗ в опухоли доказывается регистрируемым изменением цвета опухоли, поскольку она приобретает яркий красно-фиолетовый цвет (характерный для КЗ и его агрегатов), что совпадает с максимумом опухоль-специфической активности TNF. Вектор КЗ-TNF был менее токсичен и более эффективен в редуцировании опухоли, чем нативный TNF, так как максимальная антиопухолевая реакция достигалась при более низких дозах лекарства.

Изучение свойств золотых наночастиц позволило управлять ими и пришивать к различным биомолекулам, в частности антителам. Известно, что эти частицы отлично нагреваются инфракрасным светом подходящей частоты: это происходит из-за плазмонного резонанса. Частота резонансных колебаний электронов связана с размером наночастицы, и именно у золотых наностержней она может возбуждаться ИК-светом. При этом волны такой длины достаточно свободно проходят сквозь тело человека. Небольшие опухоли трудно определить обычными методами лучевой диагностики. Однако это возможно, если ввести в организм препарат из золотых наночастиц с сорбированными антителами к раковым клеткам. Антитела прочно прикрепляют частицу к мишени, а под импульсами ИК-лазера наночастицы нагреваются и расширяются. Процесс сопровождается появлением ультразвука, который можно легко зафиксировать, т.е. раковую опухоль заставят «звучать» под лазерным лучом. Также этим аспектом использования золо-

тых частиц занимались американские исследователи из технологического института Джорджии и университета Калифорнии под руководством профессора Mostafa El-Sayed. Разработан новый метод простой и надежной диагностики и терапии онкологических заболеваний, с помощью которого можно «картографировать» опухоль с точностью до нескольких клеток [47]. В работе [53] для диагностики и терапии рака предложено использовать золотые наноболочки.

Ученые изучают и другие возможности применения золотых наночастиц. Например, прикрепленную антителами к раковой клетке частицу можно нагреть до температуры выше 100 °С, уничтожив саму клетку, также нагрев может заставить открыться капсулу с противораковым препаратом, который будет доставлен точно к месту назначения.

Заключение

Морфометрические и физико-химические параметры наночастиц благородных металлов, образующихся в процессе нуклеации и роста по механизму химической конденсации, сложным образом зависят от большого количества трудно контролируемых, порой переменных параметров. Сложность управляемого синтеза наночастиц с заданными свойствами связана с влиянием размеров, форм и структуры металлических НЧ и их агрегатов на оптические свойства образуемых ими систем. Состав же поверхностного слоя обуславливает специфику взаимодействия с биомакромолекулами.

Анализ экспериментальных данных относительно механизмов формирования золей коллоидных благородных металлов, основанных на химическом восстановлении соответствующих солей, позволяет выявить ряд параметров, влияющих на систему закономерным и воспроизводимым образом:

- основным параметром, управляющим дисперсностью образующихся золей является соотношение окислитель/восстановитель;
- изодисперсность образующихся золей обусловлена обратимостью процессов нуклеации и роста частиц;
- поверхность металлических наночастиц гидрозоля включает в состав коионного слоя лиганды восстановителя и анионы исходной соли;
- для получения золотых НСф в диапазоне 10-40 нм наиболее подходящим является метод Френса (цитратного восстановления ЗХВК). Для получения изоморфных и изодисперсных золей с размерами частиц более 40 нм целесообразно использовать методики зародышевого роста;
- формирование несферических стержневых наночастиц происходит в условиях фазовой анизотропии среды, обеспеченной наличием жестких или мягких матриц.

Гидрозоли металлов – это типичные гидрофобные коллоиды, существующие в агрегативно устойчивом состоянии лишь в условиях крайне низкой ионной силы дисперсионной среды. Такие золи называют электростатически стабилизированными. Устойчивость золя можно повысить путем покрытия частиц полимерным слоем. Добавка даже очень малого количества полимера к лиофобным коллоидам способна сильно повысить их агрегативную устойчивость, то есть стабилизировать лиофобные коллоиды.

Эффективность стабилизации зависит от растворимости добавляемого защитного полимера в дисперсионной среде, способности лиофобных частиц его адсорбировать на своей поверхности и степени заполнения этой поверхности стабилизатором.

Наночастицы КЗ представляют большой интерес для биологии (определение нуклеиновых кислот,

белков и метаболитов), медицины (терапия опухолей, ревматоидного артрита, адресная доставка лекарств), химии (мониторинг объектов окружающей среды, количественный анализ растворов и дисперсных систем) и других областей науки (иммунологии, биологии клетки, генетики, геомикробиологии, геобиохимии).

Литература

1. Баран А.А. Полимерсодержащие дисперсные системы. – Киев: Наук. Думка, 1986. – 204 с.
2. Бусев А.И., Иванов В.М. Аналитическая химия золота. – М.: Наука, 1973. – 264 с.
3. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с.
4. Ериов Б.Г. Наночастицы металлов в водных растворах: электронные, оптические и каталитические свойства // Рос. хим. журн. – 2001. – 45. – С. 20–30.
5. Жигмонди Р. Коллоидная химия. – Харьков; Киев: НКСнаб УССР, 1933. – 256 с.
6. Зеленин А.В. Генная терапия на границе третьего тысячелетия // Вест. РАН. – 2001. – 71. – С. 387–95.
7. Клюбин В.В., Круглова Л.А., Сахарова Н.А., Таллиер Ю.А. Измерение дисперсного состава латексов с помощью метода динамического рассеяния света // Коллоид. журн. – 1990. – 52. – С. 470–7.
8. Маракушев С.А. Геомикробиология и биохимия золота. – М.: Наука, 1991.
9. Русанов П.А. Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. – СПб.: Химия, 1990. – 280 с.
10. Сведберг Т. Образование коллоидов. – Л.: Науч. хим.-техн. изд-во, 1927. – 111 с.
11. Сонин А.С. Лиотропные нематоды // Успехи физических наук. – 1987. – 153. – С. 273–310.
12. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии: Поверхностные явления и дисперсионные системы. – М.: Химия, 1989. – 464 с.
13. Хлебцов Н.Г., Богатырев В.А., Дыкман Л.А., Мельников А.Г. Оптические свойства коллоидного золота и его конъюгатов с биоспецифическими макромолекулами // Коллоид. Журн. – 1995. – 57. – С. 412–23.
14. Хлебцов Н.Г., Богатырев В.А., Хлебцов Б.Н. и др. Многослойная модель биоконъюгатов золотых наночастиц: исследование адсорбции желатина и иммуноглобулина человека с использованием спектров статического рассеяния и поглощения света и метода динамического светорассеяния // Коллоид. журн. – 2003. – 65. – С. 679–93.
15. Хлебцов Н.Г., Богатырев В.А., Дыкман Л.А., Хлебцов Б.Н. Золотые наноструктуры с плазмонным резонансом для биомедицинских исследований // Российские нанотехнологии. – 2007. – 2. – С. 69–86.
16. Хлебцов Б.Н., Ханадеев В.А., Богатырев В.А. и др. Использование золотых нанооболочек в твердофазном иммуноанализе // Российские нанотехнологии. – 2008. – 3. – С. 50–63.
17. Andreu E.J., de Llano J.J.M., Moreno, Knecht E. A rapid procedure suitable to assess quantitatively the endocytosis of colloidal gold and its conjugates in cultured cells // J. Histochem. Cytochem. – 1998. – 46. – P. 1199–202.
18. Anshup A., Venkataraman J.S., et al. Growth of gold nanoparticles in human cells // Langmuir. – 2005. – 21. – P. 11562–7.
19. Bajaj S., Ahmad I., Fatima M. et al. Immunomodulatory activity of a Unani gold preparation used in Indian system of medicine // Immuno-pharmacol. Immunotoxicol. – 1999. – 21. – P. 151–61.
20. Berne B.J., Pecora R. Dynamic light scattering with application to chemistry, biology, and physics. – N.Y.: Dover, 2002. – 376 p.
21. Birrel G.B., Helbery K.K. Immunogold labeling with small gold particles: Silver enhancement provides increased detectability at low magnifications // J. Electron. Microsc. Technol. – 1987. – 5. – P. 219–20.
22. Chen W., Cai W., Zhang L. et al. Sonochemical processes and formation of gold nanoparticles within pores of mesoporous silica // J. Colloid Interface Sci. – 2001. – 238. – P. 291–5.
23. Churaev N.V. The DLVO theory in Russian colloid science // Adv. Colloid Interface Sci. 1999. – 83. – P. 19–32.
24. Daniel M.C., Astruc D. Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology // Chem. Rev. – 2004. – 104. – P. 293–346.
25. De Mey J., Moeremans M. The preparation of colloidal gold probes and their use as marker in electron microscopy // Advanced techniques in biological electron microscopy / Ed. J.K. Koehler. B.: Springer, 1986. – Vol. 3. – P. 229–71.
26. Di Scipio R.G. Preparation of colloidal gold particles of various sizes using sodium borohydride and sodium cyanoborohydride // Anal. Biochem. – 1996. – 236. – P. 168–70.
27. Doron A., Joselevich E., Schlittner A., Willner I. AFM characterization of the structure of Au-colloid monolayers and their chemical etching // Thin Solid Films. – 1999. – 340. – P. 183–8.
28. Dubois L.H., Nuzzo R.G. Synthesis, structure, and properties of model organic surfaces // Annu. Rev. Phys. Chem. – 1992. – 43. P. 437–67.
29. Eisler R. Biogeochemical, health, and ecotoxicological perspectives on gold and gold mining. – Boca Raton: CRC press, 2004. – 376 p.
30. Esumi K., Susuki A., Aihara N. et al. Preparation of gold colloids with UV irradiation using dendrimers as stabilizer // Langmuir. – 1998. – 14. – P. 3157–9.
31. Esumi K., Takei N., Yoshimura T. Antioxidant-potentiality of gold-chitosan nanocomposites // Colloid Surface B. – 2003. – 32. – P. 117–23.
32. Fabrikanos A., Athanassiou S., Lieser K.H. Darstellung stabiler Hydrosol von Gold und Silber durch Reduktion mit Athylen-diamintetraessigsäure // Ztschr. Naturforsch. – 1963. – Bd. 18. – S. 612–7.
33. Faraday M. Experimental relations of gold (and others metals) to light // Philos. Trans. Roy. Soc. London. – 1857. – 147. – P. 145–81.
34. Faulk W., Taylor G. An immunocolloid method for the electron microscope // Immunochemistry. – 1971. – 8. – P. 1081–3.
35. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions // Nature. Phys. Sci. – 1973. – 241. – P. 20–2.
36. Cachard E., Remita H., Khatouri J. et al. Radiation-induced and chemical formation of gold clusters // New J. Chem. – 1998. – 22. – P. 1257–65.
37. Gericke M., Pinches A. Microbial production of gold nanoparticles // Gold Bull. – 2006. – 39. – P. 22–8.
38. Goddard E.D., Vincent B. Polymer adsorption and dispersion stability. – Wash. (D.C.), 1984. – 480 p.
39. Goia D.V., Matijević E. tailoring the particle size of monodispersed colloidal gold // Colloids Surface. A. – 1999. – 146. – P. 139–52.
40. Graham G. Medicinal chemistry of gold // Agents Actions Suppl. – 1993. – 44. – P. 209–17.
41. Green D.L., Lin J.S., Lam Y.-F. et al. Size, volume fraction, and nucleation of Stober silica nanoparticles // J. Colloid Interface Sci. – 2003. – 266. – P. 346–58.
42. Green M., O'Brien P. A simple one phase preparation of organically capped gold nanocrystals // Chem. Commun. – 2000. – 3. – P. 183–4.
43. Gu H., Ho P.L., Tong E. et al. Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities // Nano Lett. – 2003. – 3. – P. 1261–3.
44. Helfrich A., Briichert W., Bettmer J. Size characterisation of Au nanoparticles by ICP-MS coupling techniques // J. Anal. Atom. Spectrom. – 2006. – 21. – P. 431–4.
45. Hirai H., Nakao Y., Toshima N. Preparation of colloidal transition metals in polymers by reduction with alcohols or ethers // J. Macromol. Sci. Chem. – 1979. – 13. – P. 727–50.

46. Hirai H., Aizawa H. Preparation of stable dispersions of colloidal gold in hexanes by phase transfer // J. Colloid Interface Sci. – 1993. – 161. – P. 471–4.
47. Huang X., El-Sayed I.E., Qian W., El-Sayed M.A. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods // J. Amer. Chem. Soc. – 2006. – 128. – P. 2115–20.
48. Joshi H.M., Bhumkar D.R., Joshi K. et al. Gold nanoparticles as carriers for efficient transnucosal insulin delivery // Langmuir. – 2006. – 22. – P. 300–5.
49. Jürgens L., Nichtl A., Werner U. Electron density imaging of protein films on gold-particle surfaces with transmission electron microscopy // Cytometry. – 1999. – 37. – P. 87–92.
50. Kang S.K., Chah S., Yun C.Ye., Yi J. Aspect ratio controlled synthesis of gold nanorods // Korean J. Chem. Eng. – 2003. – 20. – P. 1145–8.
51. Khlebtsov B.N., Khanadeev V.A., Khlebtsov N.G. Determination of the size, concentration, and refractive index of silica nanoparticles from turbidity spectra // Langmuir. – 2008. – 24. – P. 8964–70.
52. Longenberger L., Mills G. Formation of metal particles in aqueous-solutions by reactions of metal-complexes with polymers // J. Phys. Chem. – 1995. – 99. – P. 475–8.
53. Loo C., Lin A., Hirsch L. et al. Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer // Technol. Cancer Res. Treatment. – 2004. – 3. – P. 33–40.
54. Ma Z.F., Sui S.-F. Angew. Chem., Int. Ed., 41, 2176 (2002).
55. Ma H., Yin B., Wang S. et al. Synthesis of silver and gold nanoparticles by a novel electrochemical method // Chemphyschem. – 2004. – 5. – P. 68–75.
56. Mandal M., Kundu S., Ghosh S.K., Pal T. UV-photoactivation technique for size and shape controlled synthesis and annealing of stable gold nanoparticles in micelle // Bull. Mater. Sci. – 2002. – 25. – P. 509–11.
57. Maycr A.B.R., Mark J.E. Colloidal gold nanoparticles protected by cationic polyelectrolytes // Pure Appl. Chem. – 1997. – 11. – P. 2151–64.
58. McFarland A.D., Haynes Ch.L., Mirkin C.A. et al. Color my nanoworld // J. Chem. Educ. – 2004. – 81. – P. 544A–544B.
59. Merchant B. Gold, the noble metal and the paradoxes of its toxicology // Biologicals. – 1998. – 26. – P. 49–59.
60. Microcapsules and nanoparticles in medicine and pharmacy / Ed. M. Donbrow. – Boca Raton: CRC press, 1992. – 360 p.
61. Mie G. Beiträge zur Optik trüber Medien, speciell kolloidaler Metallösungen // Ann. Phys. 1908. – Bd. 25. – S. 377–445.
62. Murillo L.E., Viera O., Vicuna E. et al. Growth kinetics of gold nanoparticles // Nanotechnology. – 2002. – 2. – P. 435–8.
63. Niidome Y., Hori A., Sato T., Yamada S. Enormous size growth of thiol-passivated gold nanoparticles induced by near-IR laser light // Chem. Lett. – 2000. – 4. – P. 310–1.
64. Nowicki W. Kinetic behavior of the system composed of nanosized gold particles and very-high-molecular-weight polyacrylamide // Colloids Surface A. – 2001.
65. Nuss S., Bottcher H., Wurn H., Hallensleben M.L. Gold nanoparticles with covalently attached polymer chains // Angew. Chem. Intern. Ed. – 2001. – 40. – P. 4016–8.
66. Oldenburg S.J., Averitt R.D., Westcott S.L., Halas N. Nanoengineering of optical resonances // Chem. Phys. Lett. – 1998. – 288. – P. 243–7.
67. Paciotti G.F., Myer L., Weinreich D. et al. Colloidal gold: A novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery // Drug Deliv. – 2004. – 11. – P. 169–83.
68. Pal A. Preparation of ultrafine colloidal gold particles using a bioactive molecule // J. Nanoparticle Res. – 2004. – 6. – P. 27–34.
69. Pham T., Jackson J.B., Halas N.J., Lee T.R. Preparation and characterization of gold nanoshells coated with self-assembled monolayers // Langmuir. – 2002. – 18. – P. 4915–20.
70. Rogoff E.E., Romano R., Hahn E.W. The prevention of Ehrlich ascites tumor using intraperitoneal colloidal ^{198}Au // Radiology. – 1975. – 114. – P. 225–6.
71. Saraiva S.M., De Oliveira J.F. Control of particle size in the preparation of colloidal gold // J. Disp. Sci. Technol. – 2002. – 23. – P. 837–44.
72. Sato S., Toda K., Oniki S. Kinetic study on the formation of colloidal gold in the presence of acetylenic glycol nonionic surfactant // J. Colloid Interface Sci. – 1999. – 218. – P. 504–10.
73. Scaffardi L.B., Tocho J.O. Size dependence of refractive index of gold nanoparticles // Nanotechnology. – 2006. – 17. – P. 1309–15.
74. Shenton W., Davis S.A., Mann S. Directed self-assembly of nanoparticles into macroscopic materials using antibody-antigen recognition // Adv. Mater. – 1999. – 11. – P. 449–52.
75. Shukla R., Bansal V., Chaudhary M. et al. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: A microscopic overview // Langmuir. – 2005. – 21. – P. 10644–54.
76. Shulepov S.Yu., Frens G. Surface roughness and particle size effect on the rate of perikinetic coagulation: experimental // J. Colloid Interface Sci. – 1996. – 182. – P. 388–94.
77. Siiman O., Burshteyn A. Formation of colloidal metal dispersions using aminodextrans as reductants and protective agents. – Pat. 5248772 US, 1993.
78. Spatz J.P., Mossmer S., Moller M. Mineralization of gold nanoparticles in a block copolymer microemulsion // Chem. Europ. J. – 1996. – 12. – P. 1552–5.
79. Stathis E.C., Fabricanos A. Preparation of colloidal gold // Chem. Industr. (London). – 1958. – 27. – P. 860–1.
80. Stejskal J., Stejskal V.D.M. The role of metals in autoimmunity and the link to neuroendocrinology // Neuroendocrinol. Lett. – 1999. – 20. – P. 351–64.
81. Stendroff C.J., Herschbach D.R. Kinetics of displacement and charge transfer reactions probed by SERS: Evidence for distinct donor and acceptor sites on colloidal gold surfaces // Langmuir. – 1985. – 1. – P. 131–5.
82. Stöber W., Fink A., Bohn J. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range // J. Colloid Interface Sci. – 1968. – 26. – P. 62–9.
83. Sugimoto T. Preparation of monodispersed colloidal particles // Adv. Colloid Interface Sci. – 1987. – 28. – P. 65–108.
84. Tan Y., Dai X., Li Y., Zhu D. Preparation of gold, platinum, palladium and silver nanoparticles by the reduction of their salts with a weak reductant-potassium bitartrate // J. Mater. Chem. – 2003. – 13. – P. 1069–75.
85. Teranishi T., Miyake M. Size control of metal nanoparticles with aid of surface protection by polymer // Hyomen. – 1997. – 35. – P. 439–52.
86. Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold // Discuss. Faraday Soc. – 1951. – 11. – P. 55–75.
87. Turkevich J., Garton G., Stevenson P.C. The color of colloidal gold // J. Colloid Sci. – 1954. – 9(suppl. 1). – P. 26–35.
88. Weiser H.B. Inorganic Colloid Chemistry. – N.Y.: Wiley, 1933.
89. Xu Z.P., Zeng Q.H. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery // Chem. Eng. Sci. – 2006. – 61. – P. 1027–40.
90. Zhivkov A., van der Zande B.M.I., Stoylov S. Electro-optics of metal particles: electric birefringence of gold rods // Coll. Surf. A. – 2002. – 209. – P. 299–303.
91. Zhou Y., Itoh H., Uemura T. et al. Preparation of 7r-conjugated polymer-protected gold nanoparticles in stable colloidal form // Chem. Commun. – 2001. – 7. – P. 613–4.